



Keimidentifizierungen mittels MALDI-TOF-MS in der Lebensmittelanalytik



Huber, I.¹, Hilmes, J.², Grünwald, K.¹, Becker, E.², Kirchoff E.², Busch, U.¹

¹ Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Veterinärstr. 2, 85764 Oberschleißheim

² Institut Kirchoff Berlin GmbH, Albestr. 3-4, 12159 Berlin

Einleitung

Was ist MALDI-TOF-MS?

- Matrix-unterstützte Laser-Desorption / Ionisation Flugzeitmassenspektrometrie
- **Alternativmethode zur kulturellen / biochemischen Identifizierung von Mikroorganismen**

Welche Vorteile bietet die Methode?

- hohe Zeitersparnis
- spezifischere Identifizierungsmethode
 - Spezies- & teilweise Subspeziesebene
- Erfassung eines breiten Mikroorganismenspektrums
- hoher Probendurchsatz
- niedrige verbrauchsabhängige Kosten

Welche Einsatzgebiete gibt es?

- Human- & Veterinärmedizin
- Pharma- & Kosmetikindustrie
- **Lebensmittelindustrie**

Welche Vorteile für die Lebensmittelindustrie gibt es?

- verbesserte Produktsicherheit & Betriebshygiene
- Ergebnisse können bereits nach 16 h vorliegen
- Produkte können schneller in den Handel gelangen
- weniger Rückrufaktionen
- Einsparung von Lagerungskosten
- Überprüfung von Starterkulturen & Probiotika

Ziel

Etablierung einer routinetauglichen Methode zur Keimidentifizierung mittels MALDI-TOF-MS in der mikrobiologischen Qualitätssicherung von Lebensmitteln.

Prinzip

Um ein Keimisolat aus Lebensmitteln zu erhalten, wird zunächst eine Verdünnung der Lebensmittelsuspension bzw. eine Anreicherung durchgeführt. Darauf erfolgt ein Ausstrich auf Platten, um Einzelkolonien der Keime für die Analyse einsetzen zu können. Eine Einzelkolonie wird entweder direkt auf den Probenträger (target) aufgetragen und in eine organische Kristallisationsmatrix eingebettet oder es wird zuvor eine Proteinextraktion durchgeführt. Mittels Lasertechnologie erfolgt die Ionisierung von (vor allem ribosomalen) Proteinen der Probe, die im elektrischen Feld zunächst gebündelt und durch ein Flugrohr geleitet werden. Nach entsprechender Flugzeit treffen die ionisierten Proteine auf einen Detektor.

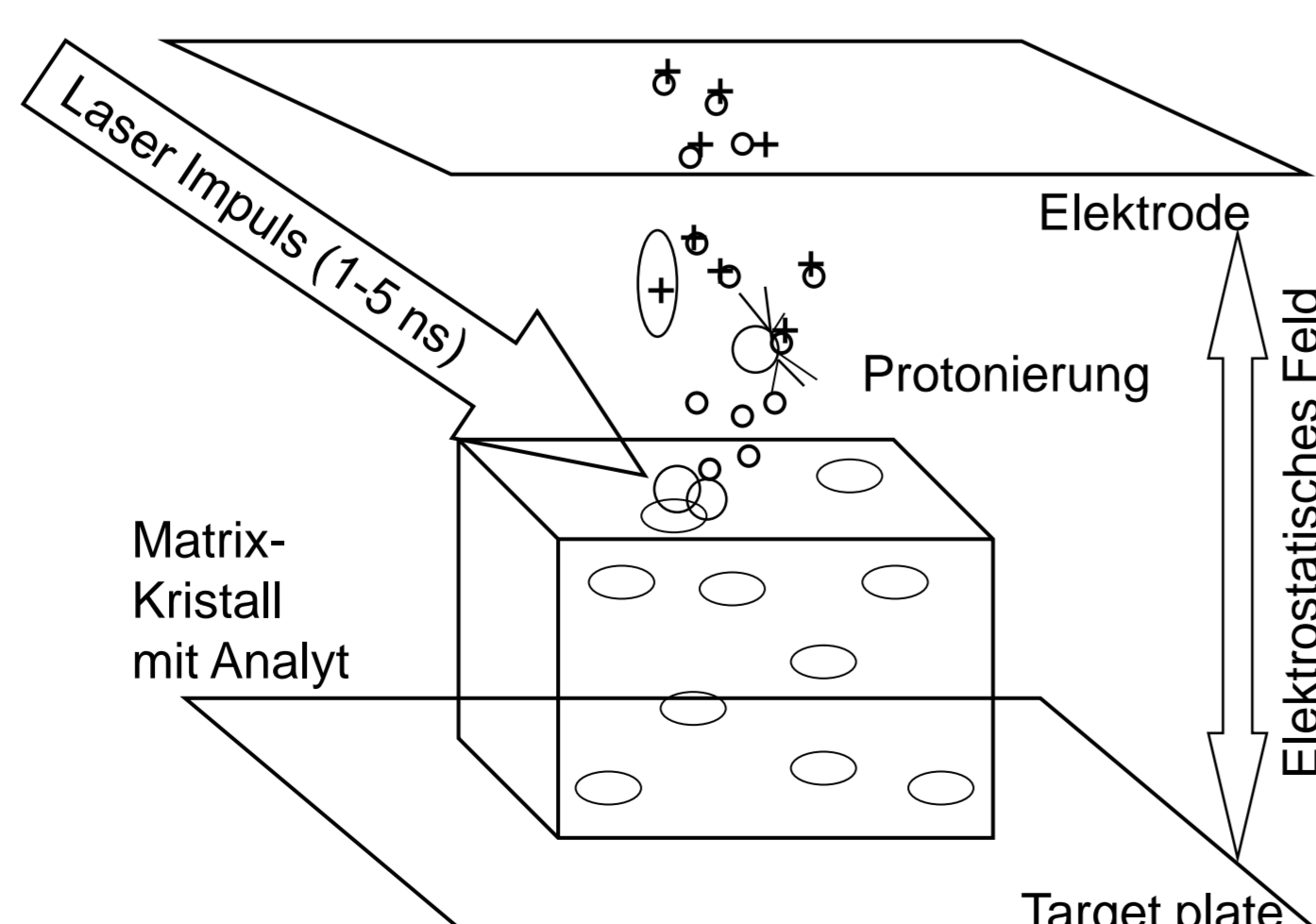


Abb. 1: Prinzip des MALDI-TOF-MS-Verfahrens.

Ergebnisse

Für die MALDI-TOF-MS Analytik genügt in der Regel eine Kolonie einer bakteriellen Reinkultur. Die Probe (extrahiert oder direkt) wird mit einer Zimtsäurematrix überschichtet. Anschließend werden Proteinspektren im Bereich von 2.000 bis 20.000 Dalton aufgenommen (Microflex LT, Bruker Daltonics). Im Rahmen der Validierung wurde gezeigt, dass bei 84% der bakteriellen Isolate die MALDI-TOF Identifizierung mit der biochemischen Identifizierung übereingestimmt hat. Insgesamt wurden mehr als 300 Proben untersucht.

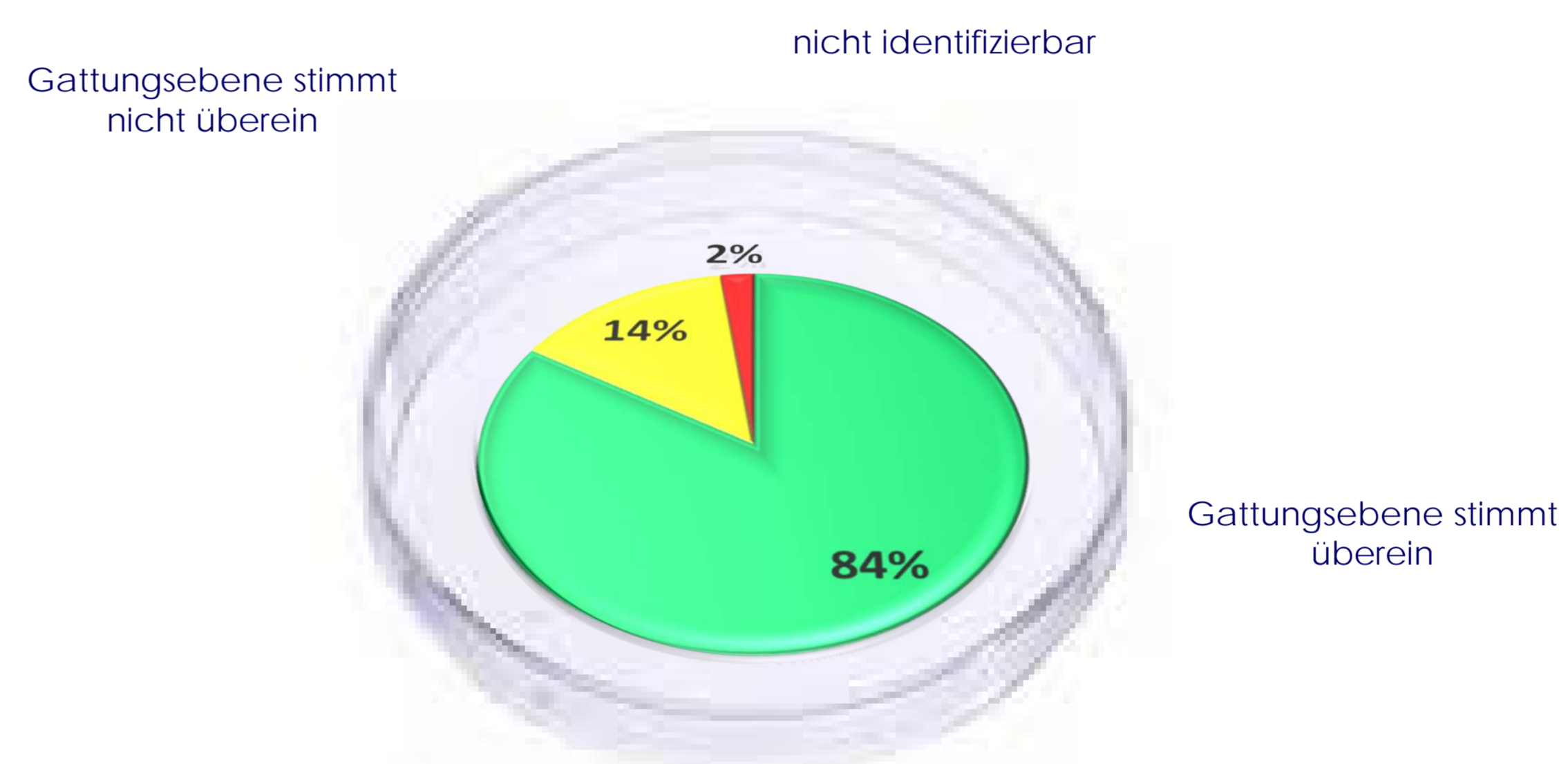
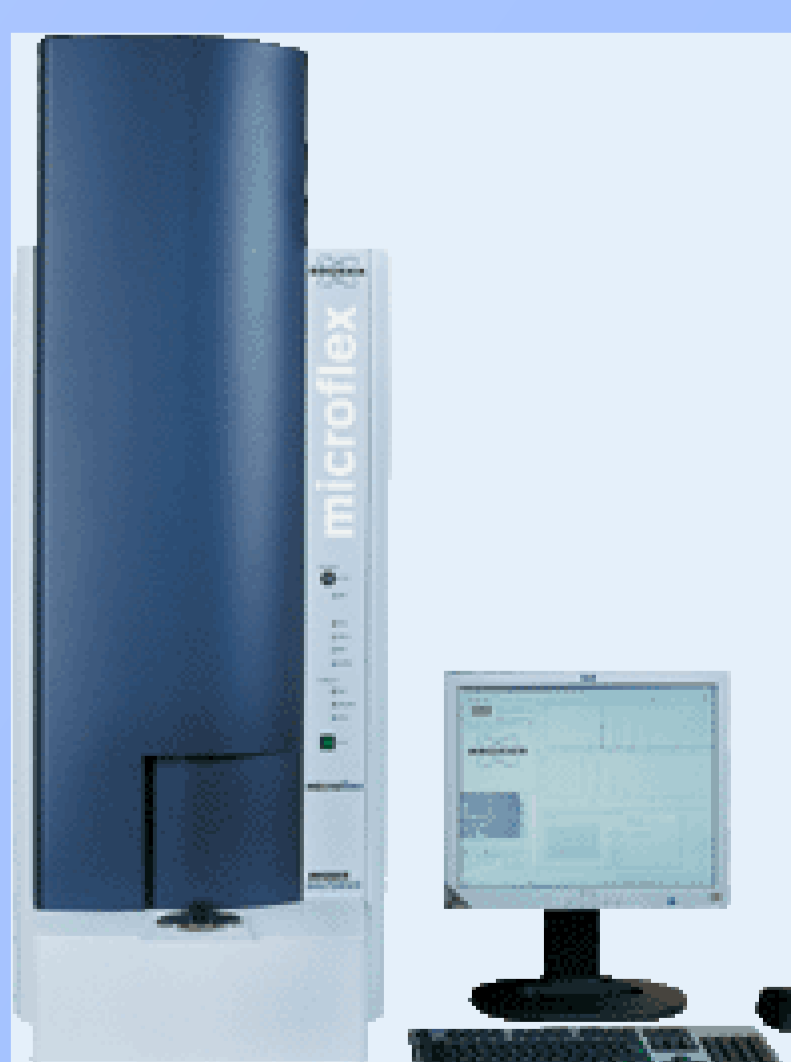


Abb. 2: Übereinstimmung der Ergebnisse der biochemischen und MALDI-TOF Identifizierung auf Gattungsebene.



Zusammenfassung

Im Rahmen einer Kooperation zwischen dem Institut Kirchoff Berlin und dem Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (Oberschleißheim) wird derzeit eine Etablierungsstudie zur Keimidentifizierung in der Lebensmitteldiagnostik durchgeführt. Bisher wurden mehr als 300 Proben untersucht. Als Referenzmethode werden biochemische und molekularbiologische Identifizierungsmethoden (API, Microbact, Latex Agglutination, Real-time PCR sowie Sequenzierung) eingesetzt.

Fazit

Durch die Identifizierung mittels MALDI-TOF-MS ist eine deutlich verkürzte und oftmals spezifischere Identifizierung möglich (Ergebnisse können bereits nach 16 h vorliegen und eine genauere Bestimmung bis auf Speziesebene ist möglich).

Danksagung

Im Rahmen der Kooperation bedanken wir uns herzlich bei den Mitarbeitern Marzena Maggipinto und Daniela Sebah des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit und dem Fachbereich Mikrobiologie, Hygiene des Instituts Kirchoff Berlin.